

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

ÜBER DAS VERHALTEN VERSCHIEDENER
PLASMALIPIDFRAKTIONEN UNTER OVULATIONSHEMMERN
DIFFERENTER ZUSAMMENSETZUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

DIETER LORENZ

aus Ehingen/Donau

Marburg/Lahn 1974

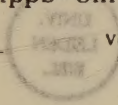
Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. D. Klaus

ÜBER DAS VERHALTEN VERSCHIEDENER
PLASMALIPIDFRAKTIONEN UNTER OVULATIONSCHEMMERN
DIFFERENTER ZUSAMMENSETZUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

 vorgelegt von

DIETER LORENZ

aus Ehingen/Donau

Marburg/Lahn 1974

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am: 5. April 1974
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. H. Kaffarnik

Correferent: Prof. Dr. med. H.C. Friederich

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung und Fragestellung	Seite 1
II	Forschungsmethoden und Methoden	Seite 1
III	Erhebung	Seite 15
IV	Evaluation	Seite 17
V	empirische Ergebnisse	Seite 20
VI	Diskussion	Seite 25
VII	Forschungsergebnisse	Seite 31
VIII	Literaturverzeichnis	Seite 40

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung und Fragestellung	Seite 1
II	Versuchspersonen und Methoden	Seite 1
III	Statistik	Seite 15
IV	Ergebnisse	Seite 17
V	Graphische Darstellungen	Seite 20
VI	Diskussion	Seite 25
VII	Zusammenfassung	Seite 39
VIII	Literaturverzeichnis	Seite 40

I. Einleitung und Fragestellung

Der Einfluss oraler Contraception auf den Fettstoffwechsel und die Blutfette ist bereits vielfach untersucht worden. Die einzelnen Autoren sind dabei zu zum Teil sehr unterschiedlichen Ergebnissen gelangt. In der vorliegenden Arbeit soll nun ermittelt werden, ob die Serumlipide unter der Einnahme von Ovulationshemmern signifikante Veränderungen gegenüber einem Normalkollektiv zeigen. Ausserdem wird untersucht, ob die Einnahmedauer von Einfluss auf die Lipidwerte ist. Schliesslich werden die oralen Contraceptiva, nach Hormonanteil aufgeteilt in sechs Gruppen, untereinander verglichen.

II. Versuchspersonen und Methoden

a) Plasmagewinnung

Die Probandinnen für alle Bestimmungen waren 16 - 33 Jahre alt, normalgewichtig und klinisch gesund. In der Familienanamnese ergab sich kein Anhalt für eine Fett- oder Kohlenhydratstoffwechselstörung. Alle Versuchspersonen hatten für mindestens drei Monate Ovulationshemmer eingenommen. Die Blutentnahmen erfolgten morgens nüchtern; vorher wurden 20 Minuten körperliche Ruhe eingehalten. Das Blut wurde aus der leicht gestauten Armvene entnommen, in heparinisierte Röhrchen aufgefangen und sofort bei 4000 U/min zentrifugiert. Das Plasma wurde dann abgossen und, auf vier Röhrchen verteilt, tiefgefroren aufbewahrt, sofern es nicht sofort weiterverarbeitet wurde.

b) Gruppen

Die Probandinnen wurden in folgende Gruppen aufgeteilt:

K = Kontrollgruppe ohne Ovulationshemmer; n = 30

- I n = 44. Präparate mit relativ hohem Gestagenanteil:
- Eugynon (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,5 mg Norgestrel)
 - Neogynon (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,25 mg D-Norgestrel)
 - Stediril (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,5 mg Norgestrel)
 - Stediril-d (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,25 mg D-Norgestrel)
- II n = 15. Präparate mit mittlerem Gestagenanteil:
- Lyndiol 2,5 (0,075 mg Mestranol, 2,5 mg Lynestrenol)
 - Noracyclin 2x (0,075 mg Mestranol, 2,5 mg Lynestrenol)
- III n = 9. Präparate mit mittlerem Gestagenanteil:
- Anovlar 21 (0,05 mg Äthinylöstradiol, 4 mg Norethisteron -
acetat)
 - Planovin (0,05 mg Äthinylöstradiol, 4 mg Megestrolacetat)
- IV n = 24. Gruppe II und III
- V n = 16. Präparate mit relativ niedrigem Gestagenanteil:
- Aconcen (0,1 mg Mestranol, 3 mg Chlormadinonacetat)
 - Ovulen (0,1 mg Mestranol, 1 mg Ethynodiolacetat)
 - Anacyclin (0,1 mg Mestranol, 1 mg Lynestrenol)
- VI Zwei - Phasen - Präparate mit überwiegender Östrogen -
wirkung (n = 17):
- Estirona (0,08 mg Mestranol bzw. 0,08 mg Mestranol + 2 mg
Chlormadinonacetat)
 - Kombiquenz (0,1 mg Äthinylöstradiol, 0,1 mg Megestrol -
acetat bzw. 0,1 mg Äthinylöstradiol, 1,0 mg
Megestrolacetat)
 - Tri-Ervonum (0,1 mg Äthinylöstradiol, 0,1 mg Megestrol -
acetat bzw. 0,1 mg Äthinylöstradiol, 1,0 mg
Megestrolacetat)
 - Ovanon (0,08 mg Mestranol bzw. 0,075 mg Mestranol + 2,5mg
Lynestrenol)

Oraconal (0,1mg Äthinylöstradiol, 0,1 mg Megestrol -
acetat bzw. 0,1 mg Äthinylöstradiol, 1,0 mg
Megestrolacetat)

VII n = 101. Gruppe I - VI

VIII Einnahmedauer bis ein Jahr (n = 66)

IX Einnahmedauer mehr als ein Jahr (n = 35)

Wenn die Versuchspersonen verschiedene Präparate eingenommen hatten, so wurde darauf geachtet, dass das Präparat in den letzten drei Monaten vor der Blutentnahme nicht gewechselt worden war.

Beim Vergleich der Gruppen miteinander bezüglich der jeweiligen Mittelwerte musste berücksichtigt werden, dass der t - Test nur bei Normalverteilung angewandt werden darf. Bei nicht gegebener Normalverteilung kam der Mann - Whitney - Test zur Anwendung.

c) Plasmaverarbeitung

Folgende Bestimmungen wurden durchgeführt:

- 1.) Phosphatidbestimmung
- 2.) Bestimmung der freien Fettsäuren
- 3.) Bestimmung des Gesamtcholesterins
- 4.) Triglyceridbestimmung
- 5.) Bestimmung des freien Glycerins

1.) Bestimmung der Phosphatide (Phos)

Zur Phosphatidbestimmung wurden die Lipide nach der Methode von Folch und Lees (19) aus dem Plasma extrahiert und im zweiten Arbeitsgang nach der Methode von Bartlett (6) mit der Veraschung nach Allen (2) bestimmt.

Chemikalien:

Chloroform DAB 6

Methanol p. a.

Natriumchlorid p. a.

70 %ige Perchlorsäure p. a.

Ammoniummolybdat p. a.

Natriumsulfit p. a.

1-amino-2-naphtol-4-sulfonsäure p. a.

Natriumpyrosulfit p. a.

konz. Schwefelsäure p. a.

Kaliumdihydrogenphosphat p. a.

Reagentien:

Ammoniummolybdat 0,22 %ig (1,1 g ad 500 ml aqua bidest.). Zu einer frisch angesetzten 13,7 %igen Natriumpyrosulfitlösung werden 0,5 g 1-amino-2-naphtol-4-sulfonsäure und 2 g wasser-freies Natriumsulfit gegeben. Die filtrierte Lösung ist in einer dunklen Flasche 2 - 3 Wochen haltbar.

Anorganischer Phosphorstandart: 0,3509 g vorgetrocknetes Kaliumdihydrogenphosphat werden in einem 1000-ml-Messkolben in aqua bidest. gelöst. Nach Zusatz von 10 ml 10N Schwefel-säure wird mit aqua bidest auf 1000 ml aufgefüllt. Dieser Standard enthält 0,4 mg Phosphor in 5 ml und ist unbegrenzt haltbar.

Durchführung als Dreifachbestimmung:

Zur Lipoidextraktion aus dem Plasma werden 1 ml Plasma und 32 ml Chloroform mit Methanol auf 50 ml aufgefüllt, geschüttelt und filtriert. 20 ml dieses Filtrats werden zur besseren Trennbarkeit mit 40 ml gesättigter Natriumchloridlösung in einem Schütteltrichter kräftig geschüttelt, und nach 30 min wird die Chloroformphase abgelassen und filtriert. Dabei bleibt das anorganische Phosphat in der Salz-Wasser-Methanol-Phase zurück. Danach werden in drei Reagenzgläser je 0,5 ml der Chloroformphase gegeben und im kochenden Wasserbad für 5 - 10 min eingedampft. Anschliessend wird der Inhalt jedes

Gläser mit 0,4 ml 70%iger Perchlorsäure versetzt und 60 min bei 180 - 200° C verascht. Nach dem Erkalten werden je 4,6 ml Ammoniummolybdatlösung und 0,2 ml Reduktionsreagenz zugegeben; die Röhrchen werden geschüttelt, in ein siedendes Wasserbad gestellt und nach 7 min abgekühlt. Bei jeder Bestimmung werden Leerwerte mitgeführt; hierbei werden in leere Gläser 0,4 ml 70%ige Perchlorsäure gegeben, danach wird wie bei den Analysenproben weiterverfahren. -- Für die Standardproben werden am Bestimmungstag 2,5 ml der Standardlösung mit aqua bidest. auf 50 ml aufgefüllt; von dieser Lösung werden je 0,5 ml pipettiert, eingedampft und wie die übrigen Proben weiterverarbeitet. Die Extinktionen der Proben werden gegen den Leerwert im Zeiss - Spektralphotometer bei 830 mμ und 1 cm Schichtdicke gemessen.

Wegen der Verdünnung der Plasmaproben bei der Extraktion gilt:

$$\text{Phosphor/ml Plasma} = \frac{E_P}{E_{St}} \times 4 \times 32$$

$$\text{Phosphor in mg/100 ml} = \frac{E_P}{E_{St}} \times 4 \times 32 = 0,1$$

Der Gehalt an Phosphatiden als Lecithin berechnet sich aus dem Phosphorgehalt multipliziert mit dem Faktor 25:

$$\text{mg Phosphor/100 ml (als Lecithin)} = \frac{E_P \times 320}{E_{St}}$$

Kritik:

Durch die Erhitzung bei der Farbbildung entsteht ein steiles Absorptionsmaximum bei 830 mμ. Die Reaktion ist ausserordentlich anfällig gegenüber Verunreinigungen (Spülmittelreste, schlecht destilliertes Wasser).

Fehlerbreite: Bei 12 Parallelbestimmungen ergab sich bei einem Mittelwert von 165,3 mg/100 ml eine Standardabweichung

von $\pm 4,6$ mg/100 ml.

2.) Bestimmung der freien Fettsäuren (FFS)

Zur Bestimmung der FFS wurde die leicht modifizierte Methode nach Duncombe (16) angewandt.

Prinzip:

Die als Kupfersalz mit Chloroform extrahierten FFS werden anschliessend in der Chloroformphase mit Diäthylthiocarbamat colorimetrisch nachgewiesen.

Chemikalien:

Chloroform p. a.

Kupfer (II) nitrat p. A.

Triäthanolaminhydrochlorid p. a.

Natriumhydroxyd p. a.

Diäthylthiocarbamat p. a.

Palmitinsäure p. a.

Sekundäres Butanol p. a.

Reagentien:

Gesättigte Lösung von Natriumhydroxyd in aqua bidest. Kupfer - reagens: 6,45 %ige Kupfer (II) nitratlösung wird mit 1 - mol. Triäthanolaminhydrochloridlösung (18,57 g in 100 ml aqua bidest.) am Tage der Bestimmung zu gleichen Teilen gemischt und mit gesättigter Natronlauge auf ein pH von 7,5 eingestellt Diäthylthiocarbamat 0,25 %ig in sek. Butanol.

Palmitinsäurestandard 0,1 mM: 12,85 mg Palmitinsäure werden in Chloroform gelöst und auf 500 ml aufgefüllt. Vor dem Versuch wird diese Stammlösung 1:4 verdünnt; dadurch wird die Ablesung im optimalen Skalenbereich ermöglicht. Die Extinktion des Standards muss dann hinterher mit 4 multipliziert werden.

Durchführung des Versuches:

als Dreifachbestimmung. In Schliffstopfenverschluss - Reagenzgläser werden 5 ml Chloroform bzw. 5 ml der verdünnten Standardlösung; 2,5 ml Kupfer (II) nitrat und 0,5 ml Plasma bzw. aqua bidest. (als Leerwert und Standard) pipettiert. Die Gläser werden sorgfältig verschlossen und waagrecht in einem Schüttelapparat 20 min geschüttelt (Frequenz 120/min). Nach Überführen des Inhaltes in Zentrifugengläser werden diese 20 min bei 6000 U/min zentrifugiert. Danach findet sich oben die wässrige Kupfersalzphase, die mit einer PVC - Capillare abgesaugt wird, und in der Mitte die ca. 1 mm dicke Proteinschicht, die mit einer auf die Vollpipette aufgesetzten Kanüle durchstoßen wird. Dann können 3 ml der Chloroformphase abgesaugt werden. Zu dieser Menge gibt man noch jeweils 0,5 ml 0,25 %iges Diäthylthiocarbamat, und nach leichtem Schütteln wird im Eppendorf - Photometer bei 440 nm und einer Schichtdicke von 1 cm die Extinktion gegen den Leerwert gemessen.

Berechnung:

$$\text{mVal FFS/Liter Plasma} = \frac{E_P}{E_{St}} \times 0,1 \times 10 = \frac{E_P}{E_{St}}$$

Kritik:

Gegenüber den Titrationsmethoden ist der Aufwand bei dieser Methode geringer, da sie nicht in CO₂-freier Atmosphäre durchgeführt werden muss. Sie ist ausserdem genauer, da der subjektive Faktor beim Ablesen des Farbumschlags entfällt. Es konnte festgestellt werden, dass die von Tesdorpf (48) entwickelte Methode des Durchstechens der Proteinschicht eine geringere Schwankungsbreite der Messungen als das vollständige Absaugen der Schicht verursachte. ----- Häm-

lytisches oder ikterisches Plasma beeinträchtigt die Genauigkeit.

Fehlerbreite: Bei 12 Parallelbestimmungen ergab sich bei einem Mittelwert von 0,385 mVal/l eine Streubreite von $\pm 0,014$ mVal/l.

3.) Bestimmung des Gesamtcholesterins (Chol)

Hierzu wurde die Biochemica-Test-Combination der Firma Boehringer, Best.-Nr. 15949, verwandt, der die Methode von Watson (49) zugrunde liegt.

Prinzip:

sterine geben in wasserfreiem Milieu mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure durch Bildung polymerer Kohlenwasserstoffe eine blaugrüne Färbung, deren Intensität photometrisch gemessen werden kann. Die sonst übliche Eiweissfällung wird durch den Zusatz von methylierten Benzolsulfonsäuren, die das Eiweiss in Lösung halten, unnötig.

Reagentien:

Arbeitslösung I (200 mg Cholesterin/100 ml Eisessig)

Konzentrierte Schwefelsäure p. a.

Arbeitslösung II (0,05 mM Dimethylbenzolsulfonsäure; 7,0 M Essigsäure; 6,5 M Essigsäureanhydrid)

Durchführung der Bestimmung:

als Zweifachbestimmung. In trockene Reagenzgläser werden 0,1 ml Plasma bzw. 0,1 ml aqua bidest. (Leerwert) sowie 2,5 ml Lösung II pipettiert. In das Standard-Röhrchen kommen 0,1 ml Lösung I und 2,5 ml Lösung II. Dann stellt man die Röhrchen für 5 min in ein wasserbad (20-25°C); danach werden je 0,5 ml konz. Schwefelsäure zugegeben, und es wird sofort gründlich geschüttelt, bis sich alle Präzipitate gelöst haben. Nach weiteren 10 min im Wasserbad kann man die

Extinktionen der Proben und des Standards im Eppendorf - Photometer bei einer Schichtdicke von 1 cm und einer Wellenlänge von 578 nm messen.

Berechnung:

$$\text{mg Chol/100 ml Plasma} = \frac{E_P \times 200}{E_{St}}$$

Kritik:

Die Reaktion ist sehr temperaturempfindlich. Deshalb müssen die Reagenzgläser während der H_2SO_4 -Zugabe unbedingt im Wasserbad stehen bleiben. Hämolytische oder ikterische Seren verfälschen die Ergebnisse.

Fehlerbreite: Bei 13 Parallelbestimmungen ergab sich ein Mittelwert von 187 mg/100 ml und eine Streubreite von $\pm 3,37$ mg/100 ml.

4.) Bestimmung der Triglyceride (TGL)

Zur Bestimmung der TGL wurde die von Eggstein und Kreutz (17) entwickelte enzymatische Methode verwandt.

Prinzip:

Um die im Plasma vorliegenden Triglyceride als Glyceride (entsprechend der beim freien Glycerin beschriebenen Methode) bestimmen zu können, müssen sie erst verseift werden. Dann muss - nach der Bestimmung des FGL - die Plasmakonzentration desselben von der Konzentration an Gesamtglyceriden abgezogen werden. -- Zur quantitativen Analyse wurde die Boehringer-Test-Combination "Neutralfett und Glycerin" verwandt.

Reagentien:

Arbeitslösung I (0,1 M Triäthanolaminpuffer pH = 7,6;
0,004 M Magnesiumsulfat)

Arbeitslösung II (0,006 M NADH; 0,033 M ATP; 0,011 M PEP)

Arbeitslösung III (2 mg LDH/ml; 1 mg PK/ml)

Arbeitslösung IV (2 mg GK/ml)

Äthanolische Kalilauge (0,5 N in 10 ml aqua bidest. lösen,
nach Abkühlen auf 100 ml mit un -
vergälltem abs. Alkohol auffüllen)

Magnesiumsulfatlösung (0,15 M mit dest. Wasser lösen und
auf 100 ml auffüllen)

Durchführung der Bestimmung:

Für die zu Beginn durchzuführende Verseifung werden 0,5 ml
Äthanolische Kalilauge und 0,2 ml Plasma in ein Zentrifugen -
glas pipettiert, mit Parafilm verschlossen und bei 70°C
für 30 min in ein wasserbad gestellt. Danach wird abgekühlt
und jeweils 1 ml Magnesiumsulfatlösung zugegeben, gemischt
und zentrifugiert. 0,5 ml des klaren Überstandes, den man
auf diese weise erhält, werden zur Glyceridbestimmung an -
gesetzt.

In eine Messküvette werden nacheinander 2,5 ml Arbeits -
lösung I, 0,1 ml Arbeitslösung II, 0,5 ml Überstand und
0,02 ml Arbeitslösung III pipettiert, mit einem Plastik -
spatel gemischt und 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen.
Danach wird (bei einer wellenlänge von 366 nm) die Ex -
tinktion E_1 bestimmt. Hiernach werden 0,02 ml der Arbeits -
lösung IV zugegeben; die Reaktion ist nach 10 min abge -
laufen, und man liest die Extinktion E_2 ab. Die Ex -
tinktionsdifferenz des Leerwertes wird von denen der Pro -
ben subtrahiert:

$$\Delta E_{\text{Korr}}(\text{Probe}) = \Delta E(\text{Probe}) - \Delta E(\text{Leerwert})$$

Berechnung:

Zur Berechnung der Neutralfettkonzentration im Plasma wird
das quantitativ bestimmte freie Glycerin vom Gesamt -Gly -

cerin nach Verseifung subtrahiert und mit der Konstanten 9,61 multipliziert:

$$\begin{aligned} \text{mg Gesamt-Glycerin/100 ml} &- \text{mg freies Glycerin/100 ml} \\ &= \text{mg Neutralfett/100 ml} \end{aligned}$$

Kritik:

Die Reaktion ist ausserordentlich empfindlich gegen Spülmittelverunreinigungen oder unsaubere Chemikalien. Das ATP in Arbeitslösung II kann sich bei zu langer und unsachgemässer Lagerung zersetzen. Dies kann zu einem zusätzlichen NADH-Verbrauch führen, was bei der eigentlichen Glyceridbestimmung bedeutet, dass die Reaktion vorzeitig zum Stillstand kommt. Als Messergebnis erhält man dann eine zu niedrige Glycerin-Konzentration. Bei dieser enzymatischen Bestimmung ist keine Fettextraktion und keine Abtrennung der Phosphatide oder anderer Substanzen erforderlich. Durch einen fünffachen Überschuss an äthanolischer Kalilauge beim Eindampfen erreicht man, dass unverändertes Glycerin als Hydrolyseprodukt anfällt. Die bei der Bestimmung ebenfalls verseifenden Glycerophosphate und Cholestrinester stören die Berechnung nicht, da das aus ihnen entstehende alkalistabile Glycerophosphat wie auch dessen Umwandlungsprodukt beta-Glycerophosphat bei der enzymatischen Glycerinbestimmung nicht mitreagieren.

Fehlerbreite: Bei 12 Parallelbestimmungen ergab sich ein Mittelwert von 91,3 mg/100 ml und eine Standardabweichung von $\pm 2,2$ mg/100 ml.

5.) Bestimmung des freien Glycerins (FGL)

Wie bereits erwähnt, wurde auch die Glyceridbestimmung nach der von Eggstein und Kreutz (17) entwickelten enzymatischen Methode vorgenommen. Dazu muss das Plasma zu -

nächst enteiwisst und neutralisiert werden.

Prinzip:

Im enteiwissten und neutralisierten Plasma vorhandenes FGL wird mit Hilfe von Glycerokinase enzymatisch bestimmt. Dabei wird Glycerin zu Glycerin-1-phosphat phosphoryliert, aus ATP entsteht ADP, Katalysator ist Pyruvatkinase. In der folgenden Reaktion entstehen Pyruvat und ATP aus Phosphoenolpyruvat und ADP, Katalysator ist Pyruvatkinase. Durch NADH wird Pyruvat zu Lactat hydriert, Katalysator ist Lactatdehydrogenase. NADH wird dabei zu NAD oxydiert. Die Menge an NADH, die während dieser Reaktion verbraucht wird, ist der umwandlungsfähigen Glycerin-Menge äquivalent.

reagentien:

Zur Enteiweissung und Neutralisation:

0,6 N Perchlorsäure

Phenolphthalein

0,5 N äthanolische Kalilauge

Zur enzymatischen Bestimmung des FGL:

Arbeitslösung I (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH = 7,6;

0,004 M Magnesiumsulfat)

Arbeitslösung II (0,006 M NADH; 0,033 M ATP; 0,011 M PEP)

Arbeitslösung III (2 mg LDH/ml; 1 mg PK/ml)

Arbeitslösung IV (GK 2 mg/ml)

Durchführung der Bestimmung:

1 ml Plasma und 1 ml 0,6 N Perchlorsäure werden in ein Zentrifugenglas pipettiert und zentrifugiert. Von dem klaren Überstand versetzt man 1 ml mit 0,01 ml Phenolphthalein und titriert mit 0,5 N Kalilauge bis zum Farbumschlag; dann wird erneut zentrifugiert, wobei wenig Kaliumperchlorat ausfällt. 0,5 ml des Überstandes gehen in den Test ein. In einer Küvette mischt man

2,5 ml Arbeitslösung I

0,1 ml Arbeitslösung II

0,5 ml Überstand

0,02 ml Arbeitslösung III

mit einem Plastikspatel und lässt 10 min bei Raumtemperatur stehen; dann wird bei einer wellenlänge von 366 nm die Extinktion E_1 bestimmt (schichtdicke 1 cm). Danach gibt man 0,02 ml der Arbeitslösung IV zu; die Reaktion ist nach 10 min abgelaufen, und man kann die Extinktion E_2 ablesen. Die Extinktionsdifferenz ΔE des Leerwertes wird von denen der Proben abgezogen:

$$\Delta E_{\text{kor}}(\text{Probe}) = \Delta E(\text{Probe}) - \Delta E(\text{Leerwert})$$

Unter Berücksichtigung der bei Enteiweissung und Neutralisation entstandenen Verdünnung ergibt sich folgender Faktor:

$$f = \frac{92,1 \times 3,14 \times F \times 2 \times 100}{3,3 \times 0,5 \times 1 \times 1000} \left[\frac{\text{Mol} \times \text{ccm} \times \text{ml} \times \text{ml}}{\text{qcm} \times \text{Mol} \times \text{ccm} \times \text{ml} \times \text{cm}} \right]$$

dabei sind: 92,1 = Molekulargewicht von Glycerin

3,14 = Küvettenvolumen

$F = 1 \text{ ml Überstand} + 0,01 \text{ ml Phenolphthalein}$
+ Verbrauch an KOH

2 = aus 1 ml Perchlorsäure und 1 ml Plasma
resultierender Verdünnungsfaktor

100
= Umrechnung von mg auf ml
1000

3,3 = Extinktionskoeffizient von NADH bei
366 nm

0,5 = Menge des Überstandes

1 = schichtdicke der Küvette

Daraus ergibt sich:

$$\Delta E_{\text{kor}} \times f = \text{mg FGL}/100 \text{ ml}$$

Fehlerbreite: Bei 12 Parallelbestimmungen ergab sich ein Mittelwert von 0,362 mg/100 ml und eine Standardabweichung von $\pm 0,017$ mg/100 ml.

Kritik:

Die Reaktion ist sehr empfindlich gegenüber Verunreinigungen (z. B. Spülmittelreste). Nicht frische oder hämoly - sierte Seren dürfen nicht verwandt werden. Die Titration muss ausserordentlich exakt durchgeführt werden.

III. Statistik

Die Werte in den verglichenen Gruppen wurden zunächst auf Normalverteilung überprüft. Enthielt eine Gruppe weniger als 20 Werte, so wurde diese Überprüfung mit dem Nullklassentest, bei mehr als 20 Werten mit dem Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Lag in mindestens einer der beiden Gruppen keine Normalverteilung vor, wurde zum Vergleich der Mittelwerte der beiden Gruppen der Mann-Whitney-Test, sonst der t-Test nach Student ausgeführt. Beide Tests liefern als Ergebnis ein Signifikanzniveau α . α ist die Irrtumswahrscheinlichkeit (in Prozent) dafür, dass sich die Mittelwerte der beiden Gruppen voneinander signifikant unterscheiden. Bei $\alpha < 5\%$ betrachtet man die Signifikanz als gegeben.

a) Der t-Test

Der t-Test dient zum Vergleich von zwei unabhängigen Stichproben aus normal verteilten Grundgesamtheiten hinsichtlich ihrer Mittelwerte. Es wird der Ausdruck

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2 \cdot x(n_1 - 1) + s_2^2 \cdot x(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \times \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$$

berechnet. Dabei bedeuten;

$\bar{x}_1, \bar{x}_2$ Mittelwerte in den beiden Gruppen

s_1, s_2 Streuungen in den beiden Gruppen

n_1, n_2 die Umfänge der beiden Gruppen.

Der Mittelwert berechnet sich aus der Formel

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

die Streuung nach

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{n - 1}} .$$

t ist Student-verteilt mit $n_1 + n_2 - 2$ Freiheitsgraden. Aus t und der Anzahl der Freiheitsgrade berechnet sich die gesuchte Irrtumswahrscheinlichkeit alpha aus der Student - Verteilungsformel.

b) Der Mann-Whitney-Test

Der Mann-Whitney-Test dient zum Vergleich von zwei unabhängigen Stichproben, die nicht aus normalverteilten Grundgesamtheiten zu stammen brauchen. Die Werte aus beiden Stichproben werden in eine aufsteigende Rangfolge gebracht. Die Summe der auf die eine Stichprobe entfallenden Rangzahlen sei R_1 . Dann berechnet man

$$U_1 = n_1 \times n_2 + \frac{n_1 \times (n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = n_1 \times n_2 - U_1 .$$

Der kleineren der beiden Grössen U_1 und U_2 wird im Falle $n_1 + n_2 = 19$ die gesuchte Irrtumswahrscheinlichkeit nach der U-Verteilungsformel zugeordnet, sonst durch eine Normalverteilung angenähert.

IV. Ergebnisse

Tab. 1 : Mittelwerte aller Lipidfraktionen der einzelnen Gruppen. SE = Streuung der Einzelwerte.

	Phosphatide mg/100 ml	FFS mVal/l	FGL mg/100 ml	TGL mg/100 ml	Gesamt-Chol mg/100 ml
K	169,5 SE = 31,27	0,2729 SE = 0,2925	0,716 SE=0,417	81,9 SE=32,67	173,0 SE= 39,52
I	196,2 SE=52,19	0,4839 SE = 0,3096	0,830 SE=0,369	96,7 SE=32,64	172,5 SE= 35,44
II	175,9 SE=41,35	0,4801 SE = 0,1742	0,867 SE=0,326	93,5 SE=26,26	158,4 SE= 20,77
III	221,4 SE=37,55	0,5221 SE = 0,2438	0,948 SE=0,320	107,4 SE=29,44	194,0 SE= 38,50
IV	193,0 SE=45,16	0,4958 SE = 0,1989	0,897 SE=0,319	98,7 SE=27,73	171,8 SE= 32,99
V	225,0 SE=48,99	0,6146 SE = 0,3633	1,019 SE=0,432	127,8 SE=60,73	171,5 SE= 36,34
VI	241,0 SE=44,05	0,5223 SE = 0,2665	0,975 SE=0,337	148,2 SE=71,00	183,2 SE= 39,74
VII	207,5 SE=51,55	0,5142 SE = 0,2889	0,900 SE=0,365	110,9 SE=49,11	174,0 SE= 35,48
VIII	210,9 SE=55,90	0,5398 SE = 0,2883	0,913 SE=0,368	115,9 SE=55,04	172,2 SE= 33,90
IX	201,1 SE=42,14	0,4666 SE = 0,2881	0,875 SE=0,365	101,2 SE=33,49	177,5 SE= 38,64

Tab. 2: alpha-Werte beim Vergleich sämtlicher Ovulationshemmer-
Gruppen mit dem Kontroll-Kollektiv. Letzte Zeile:
Gruppe VIII gegen Gruppe IX

K mit:		Phos	FFS	FGL	TGL	Chol
	I	2,69	0,00	22,06	6,01	95,64
	II	56,87	0,03	22,82	23,98	11,98
	III	0,02	0,46	13,40	4,24	16,71
	IV	11,50	0,00	8,53	4,98	90,56
	V	0,00	0,05	2,50	1,01	90,36
	VI	0,00	0,02	3,43	0,14	39,68
	VII	0,00	0,00	2,05	0,40	39,32
	VIII	0,00	0,00	2,15	0,19	91,94
	IX	0,12	0,00	10,58	2,31	64,35
VIII mit:	IX	36,60	12,64	61,81	10,39	47,79

Bei den Phosphatiden lagen die Mittelwerte aller Gruppen mit Ausnahme von Gruppe II und IV signifikant höher als die des Kontrollkollektivs. Ausserdem fiel bei der Auswertung auf, dass beim Vergleich der Gruppen VI und VII (Zweiphasenpräparate gegen Ovulationshemmer-Gesamtkollektiv) miteinander sich eine signifikante Erhöhung bei den Zweiphasenpräparaten zeigte. (Dieser Vergleich erscheint nicht in der Tabelle; s. Abb. 1)

Bei den freien Fettsäuren sind die Mittelwerte aller Gruppen gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht.

Statistisch verwertbare Erhöhungen zeigten sich beim freien Glycerin nur bei den Gruppen V, VI, VII und VIII.

Bei den Triglyceriden fand sich bei Gruppe I mit $\alpha = 6,02$ immerhin eine Tendenz zur Signifikanz; bei allen anderen Gruppen ausser bei Gruppe II eine signifikante Erhöhung der Mittelwerte. Wie bei den Phosphatiden lagen die Werte bei Gruppe VI signifikant höher als bei Gruppe VII (Abb. 4). In die Tabelle 2 wurde dieser Vergleich nicht aufgenommen.

Beim Gesamtcholesterin waren die geringsten Veränderungen zu beobachten; keiner der Mittelwerte der Gruppen I - IX war gegen K signifikant erhöht. Lediglich beim Vergleich der Gruppen II gegen III (Abb. 5) findet sich ein signifikanter Unterschied.

Wie aus Tab. 2 hervorgeht, ergab der Vergleich der Gruppe VIII gegen IX bei keiner der fünf Lipidfraktionen einen Hinweis auf signifikante Unterschiede der Mittelwerte.

V. Graphische Darstellungen

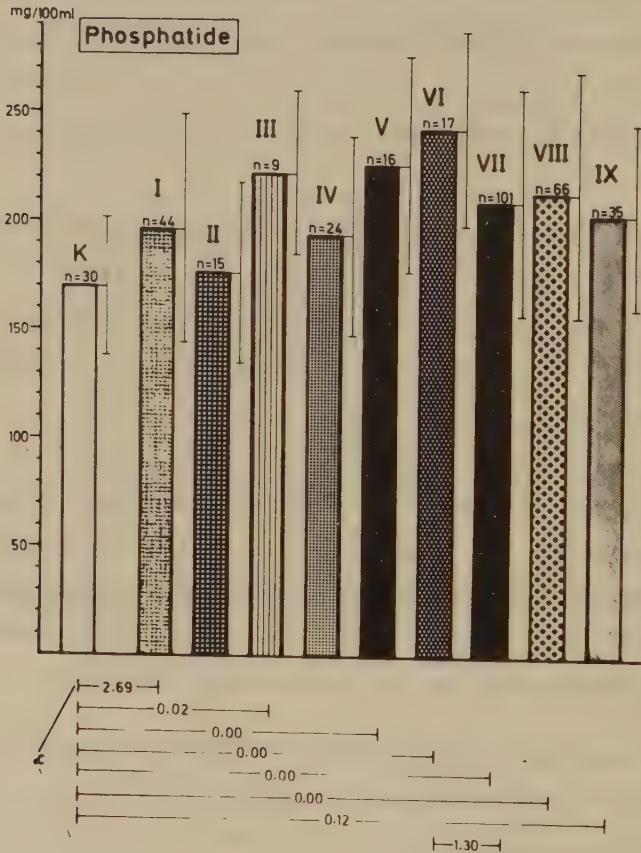


Abb. 1: Phosphatide

Bei dieser und bei den folgenden Abbildungen sind die alpha-Werte nur dann angegeben, wenn beim Vergleich der Gruppen untereinander und mit dem Kontrollkollektiv Signifikanz vorlag.

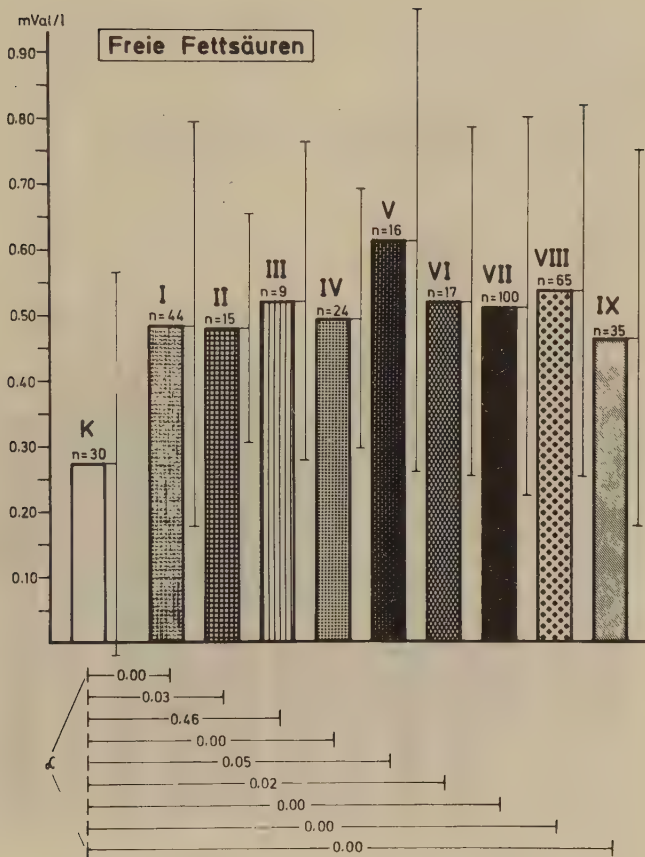


Abb. 2: Freie Fettsäuren

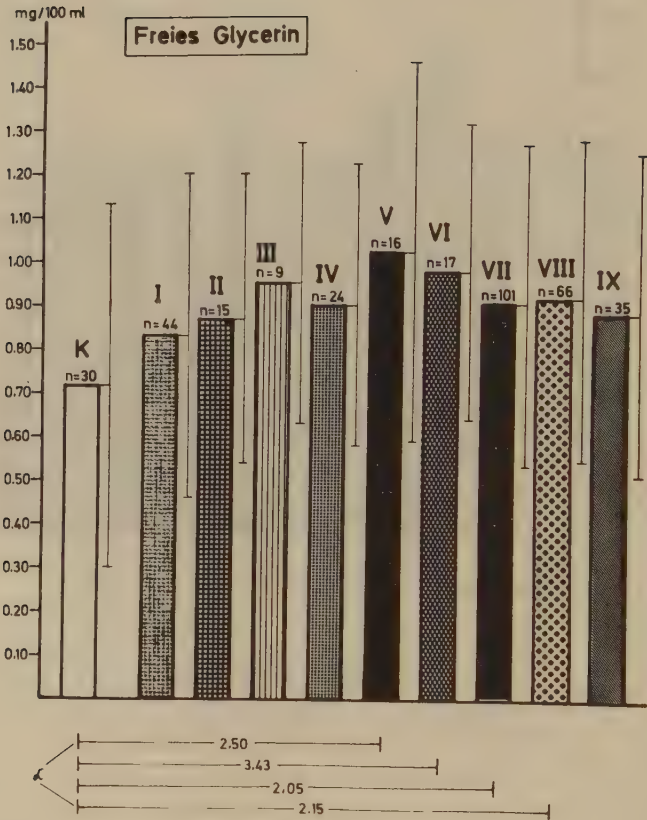


Abb. 3: Freies Glycerin

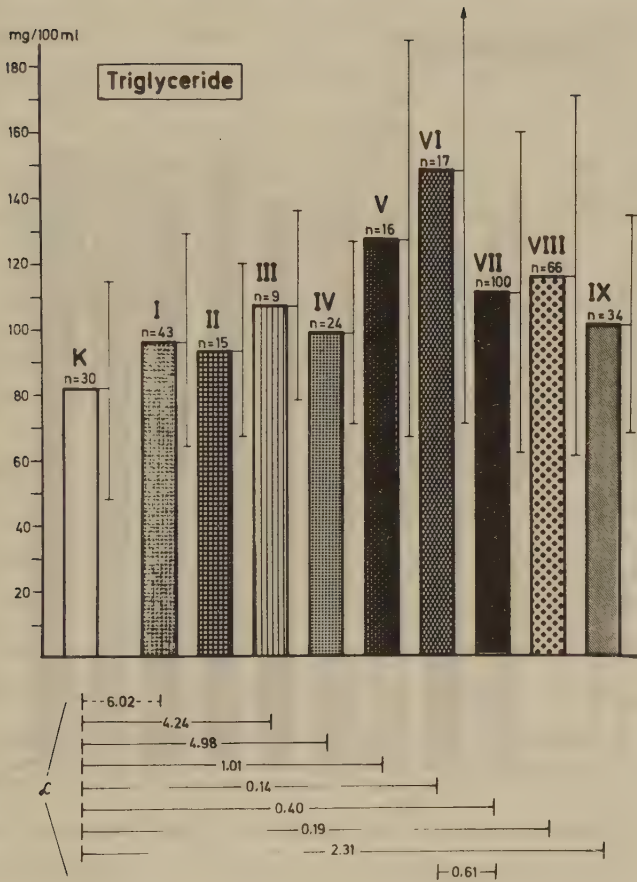


Abb. 4: Triglyceride

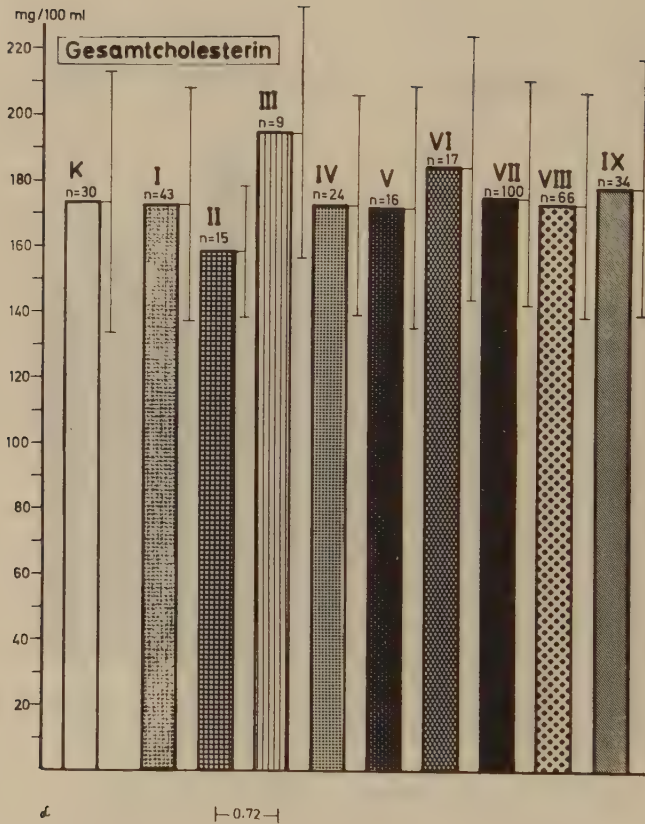


Abb. 5: Gesamtcholesterin

VI. Diskussion

Die unter der Einnahme von Ovulationshemmern auftretenden Veränderungen der Blutfette gleichen in mancher Hinsicht denen, die bei einer normalen Schwangerschaft beobachtet werden. Karsznia und Kaffarnik(25) stellten Erhöhungen bei den TGL sowie beim Chol und den Phos fest; der Chol-Phos-Quotient blieb jedoch immer unter 1, während er bei artherogenen Stoffwechsellagen grösser als 1 wird. Im Wochenbett kehrten die erhöhten Werte schon bald zum Ausgangspunkt zurück. Dieser Befund wird auch von Svanborg und Vikrot bestätigt (46), die ebenfalls eine Erhöhung der Serumlipide in der Schwangerschaft nachweisen konnten (45).

Aurell et al.(5) fanden nach einjähriger Therapie mit Anovlar eine deutliche Erhöhung bei den Phosphatiden; dies konnte hier bestätigt werden. Brody et al.(11) dagegen berichten, dass bei 10 Patientinnen vor und nach der Behandlung mit Anovlar weder bei den Phos noch bei TGL, FFS und Chol Veränderungen aufgetreten seien. Dieselben Autoren stellten in einer anderen Arbeit (10) fest, dass Anovlar sogar einen angedeutet senkenden Effekt auf die Phos hat; beim Ovulen dagegen fand sich eine Tendenz zur Erhöhung, was mit den Ergebnissen unserer Untersuchung korreliert. Brody et al.(10) erwähnten auch die unterschiedlichen Einflüsse von Norethisteronacetat (senkend auf TGL, Chol und Phos) und 17-alpha-hydroxyprogesteron (Anhebung bzw. Senkung einzelner Phospholipidfraktionen). Burger et al.(12) fanden ebenfalls signifikante Erhöhungen bei den Phos unter Eugynon und betonten, dass es sich dabei um ähnliche Veränderungen wie im 2. und 3. Trimester handele. Carol et al.(13) stellten unter der Therapie mit Ovosiston, das in seiner Zusammen-

setzung dem Aconcen entsprach, fest, dass es nach drei Monaten zu signifikanten Erhöhungen sowohl bei den Phos als auch beim Chol kam; der Chol-Phos-Quotient wurde dabei allerdings eher verringert. Gustafson und Svanborg(21) beschreiben, dass nach Äthinylöstradiol die Phos ansteigen und bei gleichzeitiger Gabe von Norethisteron wieder abfallen; es handelte sich hier um oophorektomierte Patientinnen. Kaffarnik (23) beschrieb vor und nach sechsmonatiger Therapie mit oralen Contraceptiva mit unterschiedlichem Östrogen- und Gestagenanteil signifikante Erhöhungen bei den Phos. Bei einem Vergleich zwischen Eugynon einerseits und Noracyclin und Aconcen andererseits wurde kein Unterschied festgestellt. Verglichen mit einem Ovulationshemmer-freien Normalkollektiv zeigte sich bei den Phos jedoch lediglich eine Tendenz zur Erhöhung. Als Mechanismus wird die Aktivierung einer latenten Hyperlipidämie durch Ovulationshemmer diskutiert. Larsson-Cohn (28) beschreibt eine Erhöhung der Phos unter Aconcen und einem Präparat, das 0.1 mg Mestranol und 2.0 mg Norethisteron enthielt und führt diese auf die östrogene Komponente zurück, während er für das Norethisterone, nicht aber für das Chlormadinonacetat, einen antiöstrogenen Effekt annimmt. Lehnert et al.(29) fanden beim Vergleich mit einem Normalkollektiv bei Eugynon im Wechsel mit Aconcen und Ovulen signifikante Erhöhungen der Phos und unter Eugynon, lyndiol, Noracyclin und Aconcen eine Tendenz zur Erhöhung. Beim Vergleich der Gruppen untereinander wurden jedoch keine Signifikanzen festgestellt. Robinson et al.(37) beschrieben bei oophorektomierten Frauen unter Östrogentherapie eine drastische Senkung des Chol-Phos-Quotienten, die sowohl auf ein Absinken des Cholesterin als auch auf eine Erhöhung der Phosphatide zurückzuführen war. Seng et al.(42) konnten

unter Lyndiol keine Veränderungen der Phos feststellen. de Alvarez et al.(3) beschreiben bei ihren nach Art der eingenommenen Präparate in fünf Gruppen eingeteilten Patientinnen in allen Fällen einen signifikanten Anstieg der Phos und bestätigen damit die meisten anderen Beobachtungen.

Die von den meisten Autoren festgestellte Erhöhung der Phosphatide oder zumindest eine dahingehende Tendenz zeigt sich auch in den Ergebnissen dieser Arbeit.

Bei den FFS wird von den meisten Autoren eine Beeinflussung durch Ovulationshemmer verneint; gelegentlich wird sogar von einer Senkung dieser Lipidfraktion im Plasma gesprochen (24,28). In diesem Zusammenhang ist die Feststellung von Braun (9) bemerkenswert, dass der Gehalt an FFS in Serum und Plasma gleich sei.

Wynn und Doar (50) stellten eine Erhöhung der FFS im Nüchternplasma fest. Nach Zak et al.(53) steigen die TGL unter Mestranol deutlich an, und die FFS zeigen eine Tendenz zum Anstieg. ----- In unseren Ergebnissen waren die Werte aller Gruppen gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht. Andere Autoren (9,11,23,29,38,42) konnten keine Veränderungen der FFS unter der Therapie feststellen. Braun (9) hebt ausserdem hervor, dass auch die Art des Präparates die FFS nicht beeinflusst und dass die Konzentration der FFS mit zunehmendem Alter ansteigt. Kaffarnik et al.(24) beobachteten eine Tendenz zur Erniedrigung der FFS; und Larsson-Cohn (28) berichtete sogar über eine signifikante Erniedrigung unter der Therapie mit Aconcen. Die Angaben der einzelnen Autoren differieren hier also beträchtlich.

Bei der Durchsicht der Literatur konnten wir bis auf zwei Arbeiten keine Angaben über das freie Glycerin finden. In der Studie von Seng et al.(42), in der gleichzeitig der Einfluss einer auf 2000 kcal/Tag begrenzten Diät auf die Lipidfraktionen untersucht wird, kommt es unter dreimonatiger Lyndiol-Behandlung bei nicht eingeschränkter Nahrungszufuhr zu einer signifikanten Erhöhung des FGL gegenüber dem Zeitpunkt vor der Behandlung bei gleichzeitiger Diät. Dass diese Erhöhung kaum eine Folge der erhöhten Nahrungsaufnahme ist, wird daran deutlich, dass bei Fortsetzung der Einnahme von Ovulationshemmern und gleichzeitiger Diät der Wert des FGL nicht wieder absinkt.

In unseren Ergebnissen sind Die Mittelwerte des FGL bei vier Gruppen im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant höher. --- Burger et al.(12) konnten keine signifikante Erhöhung des FGL unter dreimonatiger Eugynon-Therapie feststellen. Immerhin zeigte der Anstieg des Mittelwertes von ursprünglich 1,98 mg/100 ml auf 2,14 mg/100 ml eine gewisse Tendenz zur Erhöhung.

Relativ gut untersucht sind die Veränderungen, die unter der Einnahme hormonaler Kontraceptiva bei den Triglyceriden auftreten. Während in einigen Arbeiten keine Erhöhung dieser Lipidfraktion festgestellt wurde (11,23,24, 29), sind die meisten Autoren der Ansicht, dass bei Frauen, die diese Präparate einnehmen, eine mässige bis deutliche Vermehrung der TGL im Plasma beobachtet werden kann (3,7,8, 5,10,12,14,20,22,26,28,30,34,36,38,40,42,52,54). Kaffarnik (23) stellte bei Patientinnen, die nach einer gründlichen Untersuchung keine Stoffwechselstörungen aufwiesen, vor und nach einer sechsmonatigen Einnahme verschiedener Ovulations -

hemmer keine Veränderungen der TGL fest. In einer weiteren Untersuchungsreihe, die an stoffwechselfähig nicht so detailliert voruntersuchten Patientinnen durchgeführt worden war, kam es hingegen unter Eugynon, Noracyclin und Aconcen zu signifikanten Erhöhungen der TGL nach einem halben Jahr.(23). Lehnert et al.(29) beobachteten bei 41 Frauen, die 12-24 Monate Ovulationshemmer eingenommen hatten, keine Erhöhungen der TGL, wohl aber, wie bereits oben erwähnt, ein Ansteigen der Phosphatide. Brody et al.(11) stellte unter Anovlar und Volidan (Megestrol und Äthinylöstradiol) keine Veränderungen fest.

In unserer Untersuchung konnten wir bei fast allen Gruppen, die mit dem Kontrollkollektiv verglichen wurden, signifikante Erhöhungen der TGL oder doch zumindest eine Tendenz zur Erhöhung (Gruppe I) nachweisen. Diese Ergebnisse decken sich mit den meisten anderen Arbeiten. Burger et al.(12) fanden unter Eugynon signifikante Erhöhungen der TGL und auch der Phos und des Chol. Hazzard et al.(22) fanden neben einer Erhöhung der TGL hohe Insulinwerte und eine herabgesetzte Post-Heparin-Lipolytische Aktivität (PHLA) und schlugen vor, die TGL-Erhöhung auf eine vermehrte Synthese in der Leber (als Folge des erhöhten Insulin-Spiegels) oder auf einen verzögerten Abbau als Folge der erniedrigten PHLA zurückzuführen. Gershberg et al.(20) dagegen, die bei 61 % ihrer mit Ovulationshemmern behandelten Patientinnen eine Hypertriglyceridämie feststellten, gaben folgenden Mechanismus an: Östrogene können die Leberfunktion beeinträchtigen und zur Cholestase führen (31,43). Bei einem cholestatischen Ikterus findet man aber häufig TGL-Erhöhungen (35).

Corredor et al.(14) konnten bei Patientinnen, die Enovid (Mestranol und Norethinodrel) einnahmen, nur zu Beginn der Therapie signifikante TGL-Erhöhlungen nachweisen. Dies wird von Beck (8) darauf zurückgeföhrt, dass es sich bei dem Norethinodrel um ein Nortestosteron-Derivat handelt und dass diese Gestagengruppe -- im Gegensatz zu den 17-alpha-hydroxyprogesteron-Derivaten -- imstande ist, dem hypertriglyceridämischen Effekt der Östrogene entgegenzuwirken. Beide Effekte scheinen dosisabhängig zu sein.

Brody et al.(10) fanden unter Ovulen und Volidan deutliche Erhöhungen der TGL und beim Anovlar eine ähnliche Tendenz. Zorilla et al.(54) berichteten über zwei Patienten mit endogenen Hypertriglyceridämie Typ IV, bei denen es unter der Behandlung mit Mestranol zu exzessiv hohen TGL-Werten kam. Wynn et al.(52) stellten unter verschiedenen Ovulationshemmern TGL-Erhöhungen und ein Lipidmuster, das dem gleichaltriger Männer ähnlich war, fest. In einer anderen Untersuchung (51) führten Wynn et al. bei 116 Frauen vor und nach der Behandlung mit Contraceptiva Serumlipidbestimmungen durch und fanden TGL- und Chol-Erhöhungen. Bemerkenswert ist dabei, dass diese von der Art des Präparates, von der Dauer der Therapie, vom Körpergewicht oder von einer vorher festgestellten erniedrigten Glucosetoleranz unabhängig waren. Gershberg et al.(20) wiesen dagegen darauf hin, dass die TGL-Erhöhungen sich bei kurzer Behandlungsdauer im allgemeinen nach Absetzen des Präparates zurückbilden, bei längerer Therapie aber auch persistieren können. Aurell et al.(4,5) fanden vor und während der Behandlung mit Anovlar hohe TGL-, Chol- und Phos-Werte und wiesen auf die Ähnlichkeiten zum Lipidhaushalt in der Postmenopause hin, in der das Myocard - infarkt-Risiko grösser wird. --- Robinson et al.(36) zeigten,

dass die Östrogen-Einwirkungen auf die Blutfette dosisabhängig sind und bei 0.01 mg Äthinylöstradiol kein Effekt zu bemerken ist. --- Schenker et al.(40) konnten keine Unterschiede zwischen verschiedenen Ovulationshemmern bezüglich ihrer Auswirkungen auf die Lipide feststellen und gaben auch an, dass die Dauer der Therapie unwichtig sei. Larsson-Cohn (28) beobachtete TGL-Erhöhrungen unter der Therapie mit Aconcen und einer Kombination von Mestranol und Norethindron. Barton und Freeman (7) wiesen auf die unterschiedlich erhöhten TGL-Werte bei Einnahme von 0.1 mg bzw. 0.05 mg Mestranol hin; im ersten Fall kam es zu einer deutlichen Erhöhung, die bei Gabe von 0.05 mg wesentlich schwächer war. Ausserdem stellten sie fest, dass eine Beendigung der Therapie einen signifikanten Abfall der TGL zur Folge hatte. Eine Behandlung mit Chlormadinonacetat ohne Östrogen blieb ohne Auswirkungen auf die Lipide, de Alvarez et al.(3) fanden bei allen von ihnen untersuchten Ovulationshemmern signifikant erhöhte TGL-Werte; diese Veränderungen liefen den ebenfalls erhöhten Werten der Phosphatide und der Gesamtfettsäuren auffallend parallel. Die höchsten Werte wurden bei einer Kombination von 2.0 mg Chlormadinonacetat mit 0.08 mg Mestranol und die niedrigsten bei 0.5 mg Norgestrel mit 0.05 mg Äthinylöstradiol beobachtet. --- Seng et al.(42) fanden unter Lyndiol ebenfalls hohe TGL-Werte. --- Rössner et al.(38) gaben an, dass während einer zweimonatigen Aconcen-Therapie die TGL sich um 200 % erhöhten und, als danach nur noch Gestagene zugeführt wurden, noch für vier Wochen hoch blieben.

Bei Kekki und Nikkilä (26) findet man eine interessante Diskussion über den Mechanismus, der der TGL-Erhöhrung zugrunde liegen könnte. Hiernach gibt es in der menschlichen

Bevölkerung drei Gruppen, die sich in ihrer Kinetik beim Abbau von Triglyceriden unterscheiden. Frauen vor der Menopause haben einen wirksameren Abbaumechanismus als beispielsweise Männer im gleichen Alter. Mit Hilfe von radioaktiv markiertem Neutralfett konnten die Autoren nun zeigen, dass die Produktionsrate von Triglyceriden bei mit Ovulationshemmern behandelten Frauen zweimal so hoch ist wie in einem unbehandelten Kontrollkollektiv. Dass es dennoch nicht zu einer wesentlich stärkeren Erhöhung der TGL im Serum kommt, hängt damit zusammen, dass orale Contraceptiva ausserdem den Klärmechanismus aus dem Serum aktivieren. Beide Erklärungen würden auch von Hazzard (22) geäusserte Vermutungen bestätigen. Kekki und Nikkilä wiesen ausserdem darauf hin, dass diese Veränderungen bereits nach einem Cyclus auftreten (26).

Mason et al.(30) führen eine Anzahl verschiedener Nebenwirkungen bei Einnahme von Ovulationshemmern auf eine gemeinsame biochemische Ursache zurück: eine hormonal ausgelöste Glucocorticoid-Konzentrationserhöhung.

Im Zusammenhang mit der inzwischen wohl gesicherten TGL-Erhöhung bei Ovulationshemmer-Therapie wird immer wieder die Frage nach einem erhöhten Myocardinfarkt-Risiko gestellt. Oliver (33) weist darauf hin, dass orale Contraceptiva als Infarktursache sicherlich nicht ausreichen, wohl aber ein auslösender Faktor sein können. Veränderungen, die für einen Herzinfarkt verantwortlich werden können -- erhöhte Blutfette, pathologische Glucosetoleranz, Blutdruckerhöhungen, Thrombocytenveränderungen -- sind alle als Nebenwirkungen von Ovulationshemmern beschrieben worden.

Von allen von uns untersuchten Plasmalipidfraktionen zeigte das Gesamtcholesterin die geringsten Veränderungen. Der Mittelwert lag bei Gruppe II mit 158,4 mg/100 ml signifikant niedriger als bei Gruppe III mit 194 mg/100 ml. Sonst konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden.

Burger et al. (12) fanden nach zweimonatiger Eugynon-Therapie eine signifikante Erhöhung. In der schon erwähnten Arbeit von Zorilla et al. (54) stieg bei der Behandlung mit Mestranol ausser den TGL auch das Cholesterin an. Wynn et al. (51) beobachteten signifikante Unterschiede zwischen den Chol-Werten vor und während bzw. während und nach einer contraceptiven Behandlung. In einer anderen Arbeit von Wynn et al. (52) war das Cholesterin im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv signifikant erhöht. Lehnert et al. (29) fanden eine angedeutete Tendenz zur Erhöhung und wiesen auf das häufig parallele Verhalten von Phos und Chol hin (in der gleichen Arbeit wird über eine signifikante Erhöhung der Phos berichtet). Aurell et al. (4,5) fanden ebenfalls erhöhte Chol-Werte unter Anovlar und diskutierten zwei Mechanismen: entweder einen Androgen-ähnlichen Effekt des Norethisteron oder die Möglichkeit, dass die Einnahme über lange Zeit schliesslich zu einem Versiegen der ovariellen Östrogenproduktion führe, womit die "Schutzfunktion" der Östrogene entfallen würde. --- Larsson-Cohn (28) beobachtete bei Behandlung mit Anovlar bzw. einer Kombination aus Mestranol und Norethisteron ein Ansteigen des Chol (sowie der TGL und der Phos). --- Barton und Freeman (7) sahen unter Norethisteron und Mestranol Erhöhungen von Cholesterin und Triglyceriden, bei Behandlung mit Chlormadinonacetat jedoch keine Veränderungen. Die Folgerung, dass dies

den alleinigen Einfluss der Östrogene beweise, ist allerdings nicht ganz plausibel, denn als 17-alpha-hydroxyprogesteron-Derivat hat das Chlormadinonacetat keine androgene Wirkung — im Gegensatz zum Norethisteron, das sich vom Nortestosteron herleitet.

12 Patientinnen von Rössner et al.(38) zeigten nach zweimonatiger Aconcen-Therapie 10-20 %ige Chol-Erhöhungen; danach wurden nur noch Gestagene gegeben, und das Cholesterin blieb noch für sechs Wochen hoch. --- Carol et al.(13) fanden unter Ovosiston signifikant erhöhte Chol- und Phos-Werte, wobei sich der Chol-Phos-Quotient, wie bereits erwähnt, allerdings eher verringerte. Von Smith und Prior (44) liegt eine Beobachtung vor, nach der sich bei einer Patientin mit familiärer Hypercholesterinämie, die mit Clofibrat gut eingestellt war, unter Behandlung mit Anovlar und Eugynon das Cholesterin sehr stark erhöhte. Auch hier fällt auf, dass in beiden Präparaten ein Nortestosteron-Derivat als Gestagenkomponente enthalten ist. deAlvarez et al.(3) stellten bei allen von ihnen untersuchten Präparatgruppen signifikante Chol-Erhöhungen fest, die ausgeprägter waren als in anderen Arbeiten.

Andererseits mangelt es nicht an gegenteiligen Berichten. Dalderup und Doornbos (15) konnten bei den Cholesterinwerten keine Unterschiede zwischen einer mit oralen Contraceptiva behandelten Testgruppe und einem Kontrollkollektiv feststellen. --- Seng et al.(42) fanden unter Lyndiol ebenfalls keine Chol-Veränderungen. Schenker et al.(40) berichteten über signifikante Veränderungen (nach Einnahme von verschiedenen Ovulationshemmern) bei den Gesamtlipiden und bei den TGL, nicht aber beim Cholesterin. Brody et al.(11) fanden unter Anovlar- und Volidan-Therapie

kein verändertes Verhalten des Cholesterin.

Kaffarnik et al.(23,24) konnten in verschiedenen Untersuchungsreihen keine Erhöhungen der Chol-Werte feststellen. --- Corredor et al.(14) fanden bei langdauernder Behandlung mit Ovulationshemmern keine Erhöhungen des Cholesterin. --- In einer anderen Studie von Brody et al.(10) wiesen diese beim Anovlar sogar ein Absinken des Cholesterin nach; interessanterweise schienen gleichzeitig die Phosphatide abzufallen, was das oft gleichartige Verhalten von Cholesterin und Phosphatiden illustriert. --- Kekki und Nikkilä (26) beobachteten in einer Kontrollgruppe etwas höhere Chol-Werte als in ihrer mit Ovulationshemmern behandelten Gruppe.

Vielleicht könnte man die Senkung des Chol-Spiegels als Folge des von Nestel et al.(32) beschriebenen Mechanismus' deuten, nach dem Äthinylöstradiol den Abbau von Cholesterin beschleunigt. Auch Robinson et al.(37) fanden signifikante Chol-Senkungen (und gleichzeitig signifikante Phos-Erhöhungen) bei oophorektomierten Patientinnen unter Östrogentherapie. In einer Langzeitstudie stellten Oliver und Boyd (34) andererseits fest, dass bei männlichen Post-Myocardinfarktpatienten durch Östrogenzufuhr das Cholesterin zwar um durchschnittlich 18 % und der Chol-Phos-Quotient um durchschnittlich 28 % gesenkt werden konnten; dass dies aber keinen Einfluss auf die Häufigkeit weiterer Infarkte und auf pectanginöse Beschwerden hatte.

Aitken et al.(1) stellten in ihrer Arbeit fest, dass 1) das Cholesterin mit zunehmendem Alter ansteigt; 2) das Cholesterin bei jungen oophorektomierten Patientinnen ansteigt -- aber nicht, wenn die Patientinnen älter als 46 Jahre sind; 3) Mestranol den Chol-Spiegel bei oophorek-

tomierten Patientinnen senkt.

Wie aus dem bisher Gesagten ersichtlich wird, ist der Mechanismus, der letztlich zu einer Erhöhung der Serumlipide unter der Therapie mit oralen Contraceptiva führt, noch weitgehend unklar. Von den meisten Autoren wird allerdings heute eine überwiegende Östrogenwirkung angenommen. In mehreren Arbeiten wird aber auch versucht, einen Zusammenhang mit dem Gestagenanteil der Präparate herzustellen (3,5,8,10,11,28,52). Beck (8) wies z.B. besonders eindrucksvoll auf den Antiöstrogeneffekt der Nortestosteron-Derivate hin. Wynn et al. (52) diskutierten die Möglichkeit, dass unter dem schwachen Androgeneinfluss der Nortestosteron-Derivate die "Schutzwirkung" der Östrogene wegfallen und sich ein Lipidspiegel entwickeln könnte, der dem gleichaltriger Männer ähnelt ("a pattern resembling that seen in men"). deAlvarez et al. (3) fanden in ihrer Arbeit verschiedene Auswirkungen auf den Lipidspiegel bei Verschiedenen Präparaten. Den ausgeprägtesten Effekt verursachte hier eine Kombination aus Chlormadinonacetat und Mestranol, während ein Präparat, welches Norgestrel und Äthinylöstradiol enthielt, die geringsten Erhöhungen der Lipide zur Folge hatte.

Wir können dies nach unseren Untersuchungen bestätigen. Bei der Durchsicht unserer Ergebnisse fällt auf, dass beim Vergleich mit der Kontrollgruppe K bei allen Präparategruppen ausser Gruppe II zwei oder mehr der fünf Lipidfraktionen signifikant erhöht sind. Bei der Gruppe II (Lyndiol und Noracetylin 22) handelt es sich um Ovulationshemmer, die (18) ein "neutrales", ausgewogenes Verhältnis von Gestagenen und Östrogenen haben. Tenhaeff (47) wies

darauf hin, dass die verschiedenen Gestagene von unterschiedlicher Potenz sind und berechnete aus der Östrogen- und Gestagen-Komponente eine Leitzahl (LZ), die von 0,22 bei Östrogenbetonten bis 11,8 bei gestagenbetonten Präparaten reicht. Die Präparate unserer Gruppe II haben die LZ 4,0(Lyndiol) bzw. 4,5(Noracyclin 22). Bei den stark Östrogenbetonten Zweiphasenpräparaten der Gruppe VI (LZ bei drei Ovulationshemmern 0,22; bei Ovanon 3,1; Estirona ist nicht mehr im Handel) waren drei der fünf Lipidfraktionen signifikant erhöht. Ausserdem haben vier der fünf Präparate in Gruppe VI ein Progesteronderivat als Gestagenkomponente, während es sich in Gruppe II um Nortestosteronderivate handelt. Neben dem ausgewogenen Verhältnis der beiden Hormonanteile (wobei bei den Gestagenen auf deren unterschiedliche Potenzen zu achten ist) spielt sicherlich auch die Art des Gestagen (Nortestosteron- oder Progesteron-Derivat) eine Rolle.

Beim Vergleich des Ovulationshemmer-Gesamtkollektivs fallen die bei allen von uns bestimmten Lipiden signifikant höher liegenden Werte auf. Lediglich beim Cholesterin konnte keine Erhöhung festgestellt werden, was eine Reihe von anderen Arbeiten bestätigt; andererseits stellten viele Autoren mässige bis deutlich Cholesterinerhöhungen fest.

Gute Übereinstimmungen mit anderen Beobachtungen ergeben sich bei den Phosphatiden und Triglyceriden.

Im Gegensatz zu anderen Autoren, die bei den freien Fettsäuren keine Veränderungen oder sogar ein Absinken (24, 28) bemerkten, sahen wir eine signifikante Erhöhung, was die Arbeiten von Wynn und Doar (50) und von Zak et al.(53) bestätigt.

Beim freien Glycerin liegen nur wenige Ergebnisse

anderer Autoren vor. Seng et al.(42) fanden eine signifikante Erhöhung, Burger et al.(12) dagegen keine Veränderung. Wir fanden signifikant höhere Werte im Vergleich mit dem unbehandelten Normalkollektiv; allerdings sind die Signifikanzen insgesamt nicht so deutlich wie bei dem anderen Lipiden.

Über den Einfluss der Einnahmedauer von oralen Contraceptiva liegen wenige Mitteilungen vor. Wynn et al.(51) und Schenker et al.(40) sind der Ansicht, dass die Dauer der Therapie keinen Einfluss auf die Höhe der Lipidwerte hat. Gersberg et al.(20) deuten die Möglichkeit an, dass eine kurze Behandlung eine prompte Senkung der Blutfette nach Beendigung der Therapie zur Folge hat, während längere Einnahme ein Persistieren der erhöhten Werte auch nach Absetzen des Medikamentes nach sich ziehen kann.

Wir fanden beim Vergleich der Gruppen VIII und IX (Einnahmedauer bis bzw. mehr als ein Jahr) keine signifikanten Unterschiede. Man kann daraus schliessen, dass die durch orale Contraceptiva hervorgerufenen Veränderungen der Lipide sofort oder doch nach wenigen Cyclen einsetzen, so dass die Dauer der Therapie gleichgültig ist; das stimmt auch mit den Beobachtungen von Kekki und Nikkilä (26) überein. Ob dies allerdings auch für die u.U. durch die hohen Blutfette hervorgerufenen Sekundärveränderungen (z.B. im Sinne einer erhöhten Artherosklerosegefahr) zutrifft, kann mit unserer Versuchsanordnung natürlich nicht festgestellt werden.

Unsere Ergebnisse können die Annahme stützen, dass die Einnahme von Ovulationshemmern zur Aktivierung einer latenten Hyperlipidämie führen kann.

VII. Zusammenfassung

- 1) Unter der Einnahme von Ovulationshemmern treten, verglichen mit einem nicht behandelten Normalkollektiv, signifikante Erhöhungen bei den Phosphatiden, den freien Fettsäuren, dem freien Glycerin und den Triglyceriden auf. Das Gesamtcholesterin ist dagegen nicht erhöht.
- 2) Die Präparate werden nach ihrem Hormongehalt in Gruppen aufgeteilt, und es werden anhand von zwei Präparategruppen (Sequenzpräparate mit überwiegender Östrogenwirkung einerseits und Kombinationspräparate mit ausgewogenem Verhältnis der beiden Hormonanteile andererseits) die unterschiedlichen Auswirkungen auf die Blutfette dargestellt.
- 3) Es erscheint wichtig, dass bei der Verordnung von Ovulationshemmern nicht nur eine zahlenmässig niedrige Hormondosis, sondern bei den Gestagenen auch deren Potenz und chemische Herkunft berücksichtigt werden.
- 4) Über die Mechanismen, die den Erhöhungen der Lipide aus-
grunde liegen, herrscht noch keine Übereinstimmung. Verschiedene Möglichkeiten bei den Triglyceriden und beim Cholesterin werden diskutiert.
- 5) Die Einnahmedauer hat offensichtlich keinen Einfluss auf die Höhe der Blutfette.
- 6) Es ist anzunehmen, dass durch orale Contraceptiva eine latente Hyperlipidämie aktiviert werden kann.

VIII. Literatur

1. Aitken, J.M.
Lorimer, A.R.
McKay Hart, D.
The effects of oophorectomy
and long-term mestranol therapy
on the serum-lipids of middle-
aged women. Clin Sci 41:597
1971 zitiert nach (8)
2. Allen, R.J.L.
The estimation of phosphorus
Biochem. J. 34, 858 (1940)
3. deAlvarez, R.R.
Jahed, F.M.; Elkin, H.
Spitalny, K.J.
Jaunakais, I.
The influence of oral contra -
ceptive steroids on serum lipids
Am. J. of Obst. and Gyn. 1973,
116:727-749
4. Aurell, M.; Rybo, G.
Cramér, K.
Serumlipide und Lipoproteine
während der Zufuhr von Anovlar
Übersetzung aus Nordisk Medi -
cin Nr. 48/1966
5. Aurell, M.; Rybo, G.
Cramér, K.
Serum lipids and lipoproteins
during long-term administra -
tion of an oral contraceptive
Lancet 1966/I, 291
6. Bartlett, G.R.
Phosphorus assay in column
chromatography. J. Biol. Chem.
234, 466, (1959)
7. Barton
Freeman
Oral contraception and serum
lipids. J. of Obst. and Gyn.
of the Br. Comm. 77:551, 1970

15. Balderup, L.M. Oral Contraceptives and Serum
Doornbos, R. Cholesterol. Lancet 1968/I, 755
16. Duncombe, W.G. The colorimetric microdetermi -
nation of nonesterified fatty
acids in plasma. Clin. Chem.
Acta. 9, 222 (1964)
17. Eggstein, M.; Kreutz, F.H. Klin. Wschr. 44, 262 (1966)
18. Feldmann, H.J.; Callies, R. Zur individuell angepassten
Therapie mit hormonalen Kontra -
zeptiva. Medizinstudent 4/72:23
19. Felch, J.; Lees, M. a simple method for the isola -
Sloaney-Standley, D.H. tion and purification of total
lipids from animal Tissues
J. Biol. Chem. 226, 497 (1957)
20. Gershenberg, H.; Hulse, M. Hypertriglyceridemia during
Javier, Z. Treatment with Estrogen and
Oral Contraceptives. Obstet.
Gyn. 31, 2:186-189 (1968)
21. Gustafson, A. Gonadal steroid Effects on Plas -
Svanborg, A. ma Lipoproteins and Individual
Phospholipids. J. Clin. End. Met.
35:203, 1972
22. Hazzard, W.R. Studies on the Mechanism of
Spiger, M.J.; Bagdade, J.D. Increased Plasma Triglyceride
Wiermann, E.L. Levels Induced by Oral Contra -
ceptives. New Eng. J. Med.
280, 9:471-474 (1969)

30. Mason, B.; Oakley, N.; Wynn, V. Studies of Carbohydrate and Lipid Metabolism in Women Developing Hypertension on Oral Contraception. Brit. Med. J. 3, 317-320 (1973)
31. Mueller, M.N.
Kappas, A. Estrogen pharmacology. The influence of estradiol and estriol on hepatic disposal of sulfobromophthalein (BSP) in man J. Clin. Invest. 43:1905, (1964)
32. Nestel, P.J.; Hirsch, E.Z.
Couzens, E.A. The effect of chlorophenoxy - butyric acid and ethinyl estradiol on cholesterol turnover J. Clin. Invest. 44:891 (1965)
33. Oliver, M.F. Oral contraception and myocardial infarction. Brit. Med. J. April 1970, 210
34. Oliver, M.F.; Boyd, G.S. Influence of reduction of serum lipids on prognosis of coronary heart disease. Lancet 1961/II 499
35. Phillips, G.B. The lipid composition of serum in patients with liver disease J. Clin. Invest. 39:1639, 1960
36. Robinson, R.W.; Higano, N.
Cohen, W. Effects of long-term administration of estrogens on serum lipids of postmenopausal women. New Eng. J. Med. 263:17,828 (1960)

37. Robinson, R.W.
Higano, N.
Cohen, W.D. The Effects of Estrogens on
Serum Lipids in Women. *AMA*
Arch. Int. Med. 100:739 (1957)
38. Rössner, S.
Larsson-Cohn, U.
Carlson, L.A.
Boborg, J. Effects of an oral contraceptive
agent on plasma lipids, plasma
lipoproteins, the intravenous
fat tolerance and the post-he -
parin lipoprotein lipase acti -
vity. *Act.med.scand.* 190:301 (1971)
39. Sacks, L. Statistische Auswertungsmetho -
den. Springer Verlag, Berlin (1969)
40. Schenker, J.C.
Pinson, A.
Polishuk, W.Z. The effects of oral contracep -
on serum lipids. *Fert. and Ster.*
22:604 (1971)
41. Schering-Information Hormonale Kontrazeptiva
Schering AG Berlin
42. Seng, P.; Hasche, H.H.
Rebensburg, W.
Voigt, K.D. Systematic investigations on the
influence of a contraceptive on
some biochemical parameters of
fat and carbohydrate metabolism
Act. Endo. 62:181 (1969)
43. Sherlock, S. Biliary secretion failure in
man. The problem of cholestasis
Ann. Int. Med. 65:397, 1966
zit. nach (20)
44. Smith, R.B.W.
Prior, I.A.M. Oral-Contraceptive Opposition to
Hypocholesterolaemic action of
Clofibrate. *Lancet* 1968/I, 750

45. Svanborg, A.
Vikrot, O. Plasma Lipid Fractions, including individual phospholipids, at various stages of pregnancy Act. Med. Scand. 178:615 (1965)
46. Svanborg, A.
Vikrot, O. Plasma Lipids during the first week after delivery Act. Med. Scand. 178:631 (1965)
47. Tenhaeff, D. Ärztl. Praxis 23,75 (1971) 3351 zit. nach (18)
48. Tesderpf, M. Der Einfluss von Äthylalkohol und Fructose auf Plasmalipide und Metabolite des Fettstoffwechsels bei gesunden fastenden Versuchspersonen. Inaugural-Dissertation, Marburg 1973
49. Watson, D. A simple method for the determination of serum cholesterol Clin. Chem. Acta. 5:637 (1960)
50. Wynn, V.; Dear, J.W.H. Some effects of oral contraceptives on carbohydrate metabolism. Lancet 1969/II, 761
51. Wynn, V.; Dear, J.W.H.
Mills, G.L.; Stokes, Th. Fasting serum triglyceride, cholesterol, and lipoprotein levels during oral-contraceptive therapy. Lancet 1969/II, 756

LEBENS LAUF

Am 18. November 1947 wurde ich als Sohn des Studienrates Dr. Rolf Lorenz und seiner Ehefrau Elisabeth Charlotte in Ehingen/Donau geboren. Von 1954 bis 1958 besuchte ich die Volksschule und von 1958 bis 1966 das neusprachliche Röntgen-Gymnasium in Remscheid-Lennep.

Im Sommersemester 1967 begann ich in Marburg das Medizinstudium und legte nach zwei Semestern die naturwissenschaftliche und nach weiteren drei Semestern die ärztliche Vorprüfung ab. Im Dezember 1972 beendete ich die ärztliche Prüfung. Seither war ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Poliklinik und am Pathologischen Institut sowie an der Dermatologischen Klinik der Universität Marburg tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Beckmann, Berendes, Bommer, Brück, Buchholz, Dinroth, Dittrich, Döller, Exner, Friedrich, Ganz, Gelennefer, Graul, Hamelmann, Hardewig, Hensel, Hess, Heuser, Hildebrandt, Hohorst, Hort, Hupe, Jacob, Kaffarnik, Karlson, Koch, Koecke, Koransky, Korb, Kuns, Linneweh, Lütcke, Lahr, Lanz, Martini, Mattes, Nöth, Nultsch, Schmig, Petry, Pets, Wein, Rodeck, Rohen, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmids-Moerzmann, Seifel, Siegert, Siess, Strohmeier, Straub, Stuke, Voss, Walcher, Willenbockel, Zilliken.

Den Herren Professoren Dr. Voss und Dr. Klaus gilt mein Dank für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Arbeit an der Medizinischen Poliklinik der Universität.

Ganz besonders danke ich Herrn Professor Dr. H. Kaffarnik, der mir das Thema überlassen und bei der Durchführung der Arbeit zahlreiche Hinweise gegeben hat.

Herrn Diplom-Mathematiker P. Zöfel vom Rechenzentrum der Universität danke ich für die statistische Auswertung der Ergebnisse.

